

## 乳癌におけるエストロゲン合成：アロマターゼの重要性

著者	鈴木 貴
雑誌名	東北大学医学部保健学科紀要
巻	16
号	2
ページ	59-68
発行年	2007-07-31
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/40476">http://hdl.handle.net/10097/40476</a>

## 乳癌におけるエストロゲン合成：アロマターゼの重要性

鈴木 貴

東北大学医学部保健学科 検査技術科学専攻病理検査学分野

### Estrogen Production in Breast Carcinoma : Significance of Aromatase

Takashi SUZUKI

*Department of Pathology, Tohoku University School of Health Sciences*

Key words: Aromatase, Breast cancer, Estrogen, Intracrinology

It is well known that estrogens play important roles in growth of breast carcinomas. Recent studies have demonstrated that estrogens are locally produced in breast carcinoma tissues by several steroidogenic enzymes including aromatase, and aromatase inhibitors clinically useful for reducing the progression of breast tumors especially in postmenopausal women. In this review, I summarized results of recent studies on aromatase in breast carcinomas, and discuss the biological and/or clinical significance. Aromatase was expressed in various cell types, such as carcinoma cells, intratumoral stromal cells and adipocytes adjacent to the carcinoma, in the breast carcinoma tissue, and aromatase expression in these cells was regulated by various factors such as cell-cell interactions, cytokines and nuclear receptors. Aromatase was involved in not only estrogen production but also inhibition of androgen synthesis in breast carcinoma tissues, and aromatase inhibitors are effective in breast carcinoma patients, possibly due to increasing local androgen with estrogen deprivation. Considering that responsible enzymes in the intratumoral estrogen production are not always the same among breast cancer patients, other estrogen-producing enzymes with an exception of aromatase, may also have important therapeutic potential in breast cancer patients as an endocrine therapy.

#### はじめに

乳癌は前立腺癌や子宮内膜癌とともに代表的なホルモン依存性癌であり，女性ホルモンであるエストロゲンが乳癌の増殖進展に深く関与している。それゆえエストロゲン作用を阻害して乳癌を治療しようと古くから試みられてきた。このような乳癌内分泌療法はエストロゲンに関する基礎的

研究の発展とともに目覚ましく向上し，治療上きわめて重要な役割を今日担っている。

エストロゲンがエストロゲン受容体 (ER) を介して作用することが1960年代に明らかとなったからは，タモキシフェン等 ER を阻害する薬剤が乳癌内分泌療法の中心をなしてきた。その一方，1980年代以降アロマターゼという酵素によって乳癌組織内でエストロゲンが局所的に合成されて

いることが明らかになり、アロマターゼ阻害剤が新たな治療法として登場してきた。アロマターゼ阻害剤の成功は乳癌におけるアロマターゼの重要性を多くの研究者や臨床医に改めて認識させることになり、乳癌におけるアロマターゼ研究はますます活発化してきている。そこで本稿では乳癌におけるエストロゲン合成に関し、アロマターゼを中心に我々の研究結果とともに概説したい。

### 乳癌におけるエストロゲン供給： intracrinology

乳癌の増殖にエストロゲンが深く関与しているため、乳癌へのエストロゲン供給を遮断できれば有効な治療法となる。エストロゲンは閉経前女性では主に卵巣で産生され血中に分泌される。1895年に Beatson が乳癌患者に対する卵巣摘出術の有効性を報告して以来、血中エストロゲン濃度を低下させることが乳癌内分泌療法の基本概念となり、卵巣機能の廃絶や luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) アナログ（下垂体機能の抑制）等が開発されてきた（表1）。

しかし実際のところ、大多数の乳癌は閉経後女性において発育進展し、そのような乳癌患者にお

ける血中エストロゲン濃度は健常な閉経後女性同様低値である。このことはエストロゲンが卵巣以外からも供給されている可能性を示唆する。この点に関し 1980 年代以降研究が進んだ結果、血中に多く存在する不活型ホルモンを基質として乳癌組織内でエストロゲンが合成されていることが明らかとなった。これは活性型ホルモンが血中を介して標的臓器に作用するという従来の内分泌 (endocrinology) とは異なるホルモン作用機序であり、endocrinology と分けて intracrinology とよばれる（図1）。

Intracrinology では少量のホルモン産生で最大限のホルモン活性を局所的に得ることができ、ホルモン依存性癌で重要な役割を担っている。標的組織におけるエストロゲンは、閉経後女性のほぼ 100%，閉経前女性の約 75% がこのようにして供給されており<sup>1)</sup>、このために、閉経後女性でもエストロゲン依存性に乳癌が進展するものと考えられている。

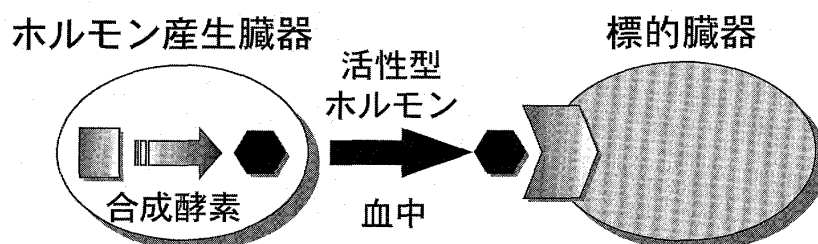
### 乳癌におけるエストロゲン供給とアロマターゼ

乳癌組織内における主なエストロゲン合成経路は図2のごとくである。この中ではアロマターゼ

表1. 乳癌で用いられる主な内分泌療法

薬 剤	作用機序	適 応
卵巣機能廃絶 外科的卵巣摘出術 放射線療法	血中エストロゲン濃度低下	閉経前女性
LH-RH アナログ ゴセレリン リュープロレリン	血中エストロゲン濃度低下	閉経前女性
抗エストロゲン剤 タモキシフェン トレミフェン	エストロゲン作用阻害	閉経後及び 閉経前女性
アロマターゼ阻害剤 アナストロゾール エキセメスタン レトロゾール	エストロゲン合成阻害	閉経後女性
合成プロゲステロン剤 酢酸メゲステロール メドロキシプロゲステロン	直接的な増殖抑制作用？	進行乳癌に対する 二次、三次薬

## Endocrinology



## Intracrinology

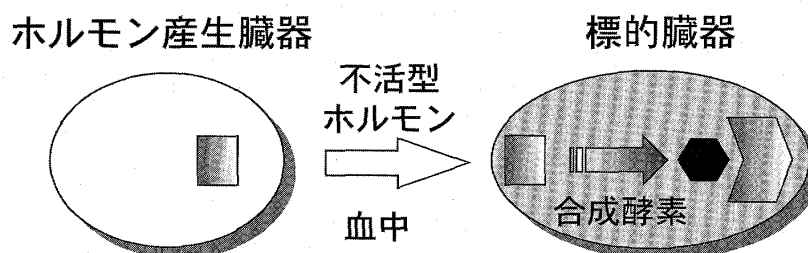


図1. Endocrinology (上段)と intracrinology (下段)におけるホルモン作用様式の違い。Endocrinology では活性型ホルモンが血液を介して標的臓器に作用するのに対し, intracrinology では, 標的臓器内でホルモンが活性化され作用する。Endocrinology では血中の活性型ホルモン濃度がホルモン作用を大きく規定するが, intracrinology ではその意義は低い。■: 不活性型ホルモン, ●: 活性型ホルモン, ▮: 受容体。

が関与する経路のみ, 逆方向に代謝する酵素が存在しない。従ってアロマターゼの発現は不可逆的なエストロゲン合成を意味することになる。このためアロマターゼは乳癌において特に重要なエストロゲン合成酵素と考えられ, 乳癌内分泌治療の標的酵素として阻害剤が開発されてきた。近年登場した第三世代のアロマターゼ阻害剤(アナストロゾール, エキセメスタン, レトロゾール)はいずれも, 大規模臨床試験によってすぐれた有用性が示されており<sup>2-4)</sup>, 閉経後乳癌患者においてタモキシフェンにとってかわりつつある。アロマターゼ阻害剤は我が国では2001年より保険承認となっている。

### 乳癌組織におけるアロマターゼの局在

アロマターゼ阻害剤はアロマターゼ陽性乳癌患者において有効であると推察されるため, 乳癌組織におけるアロマターゼの発現や局在の同定はきわめて重要である。アロマターゼ mRNA やアロマターゼ活性は約70%の乳癌組織において非腫瘍部乳腺組織よりも亢進しており<sup>5)</sup>, 乳癌組織におけるアロマターゼ発現の重要性が伺える。

アロマターゼの局在に関する過去の免疫組織化学的検討では, アロマターゼが癌組織内間質細胞や癌周囲脂肪細胞に存在するというものや, アロマターゼは乳癌細胞において陽性であるという報

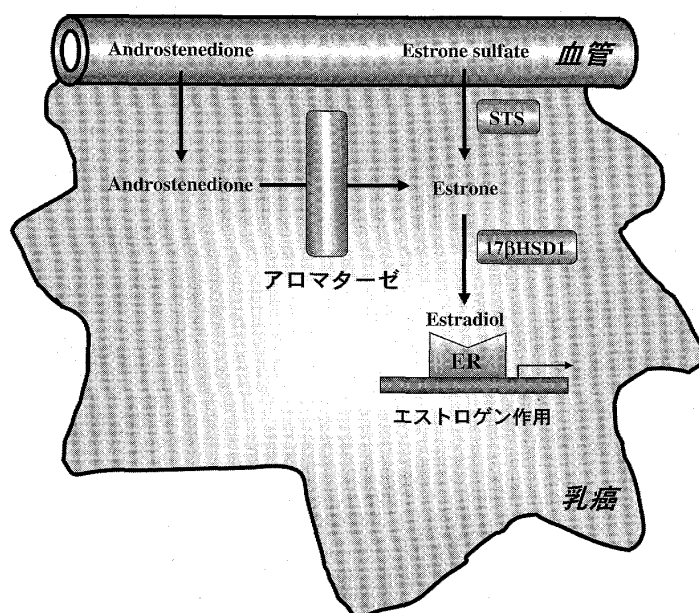


図2. 乳癌組織における主なエストロゲン局所合成経路。血中に多く存在する不活性型ホルモンである androstenedione や estrone sulfate を基質として、アロマターゼ、STS (steroid sulfatase), 17 $\beta$ HSD1 (17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1) 等によって活性型エストロゲンである estradiol が局所合成される。Estradiol は ER (エストロゲン受容体) を介して乳癌細胞に作用する。エストロゲン代謝酵素として、STS と逆方向に作用する EST (estrogen sulfotransferase (SULT 1E1)) や 17 $\beta$ HSD1 と逆向きに作用する 17 $\beta$ HSD2 も存在するが、アロマターゼと逆方向に作用する酵素は知られていない。

表2. 乳癌におけるアロマターゼの局在を免疫組織化学的に検討した過去の主な論文

著者	発表年	抗体の種類	前処理	局在
Esteban ら <sup>6)</sup>	1992	ポリクローナル	トリプシン	癌細胞
笹野ら <sup>7)</sup>	1994	ポリクローナル	なし	間質細胞
Santen ら <sup>8)</sup>	1994	ポリクローナル	なし	主に間質細胞
Brodie ら <sup>9)</sup>	2001	モノクローナル	マイクロウェーブ	癌細胞

告があり (表2)<sup>6-9)</sup>, 未だ議論の一致をみていない。これは研究者によって使用する抗体や免疫染色手技がまちまちであることが一因と考えられる。そこで我々は Laser capture microdissection 法を用いて乳癌組織より乳癌細胞, 癌組織内間質細胞, 癌周囲脂肪細胞を分離収集し, アロマターゼの発現を検討した結果, いずれの細胞においてもアロマターゼの発現が確認された (図3)<sup>10)</sup>。従って乳癌組織では, 乳癌細胞のほか様々な正常細胞もアロマターゼを発現しエストロゲン合成に関与していると考えられる。

乳癌患者における術後内分泌療法の指標として, 乳癌組織標本における ER の発現を免疫組織化学的に評価することが現在広く行われている。同じように, 今後アロマターゼ阻害剤の治療奏功性予測としてアロマターゼに対する免疫染色が臨床病理学的検査に導入される可能性も十分に考えられるが, そのためには至適な抗アロマターゼ抗体の選択や評価法の確立等, 克服しなければならない課題が未だ多く残されているといえる。

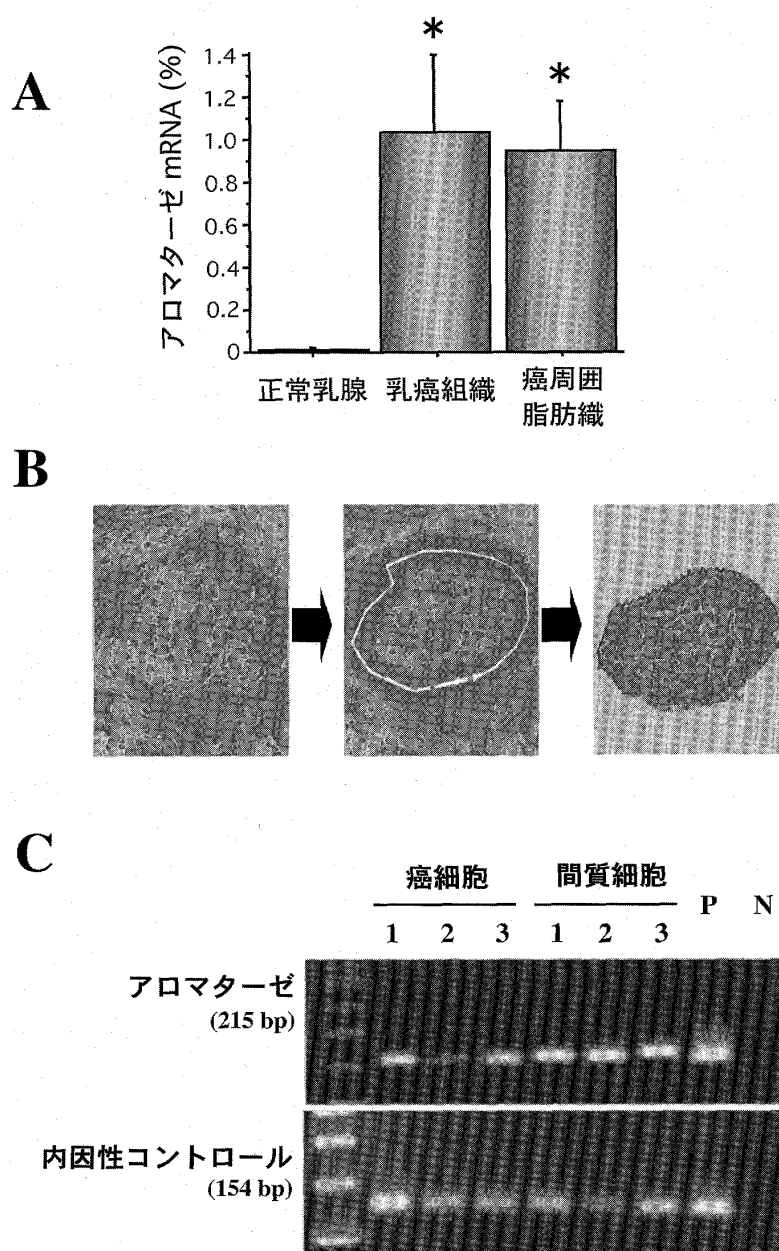


図 3. 乳癌組織におけるアロマターゼ mRNA の発現。A: アロマターゼ mRNA の発現は正常乳腺組織よりも乳癌組織や癌周囲脂肪織で有意に高い。Real-time PCR 法による解析。アロマターゼ mRNA はコントロール(胎盤組織)に対する比(%)で表し、平均値 $\pm$ 95% 信頼区間で示した(各群 12 例ずつ)。\*; 正常乳腺組織に対し  $p < 0.05$ 。B: Laser capture microdissection (LCM) 法。凍結組織標本(左図)を顕微鏡下にレーザー光線で切り(中図)、特定の領域を分離収集する(右図)。この方法を用いることで、特定の細胞を分子生物学的に解析することが可能となる。C: LCM/RT-PCR 法による乳癌組織でのアロマターゼの発現。3 症例に関し LCM 法により乳癌細胞と間質細胞を分けて収集し、アロマターゼに対する RT-PCR を行った。いずれの症例でも乳癌細胞及び間質細胞においてアロマターゼの発現が観察された。P: 陽性コントロール(胎盤)、N: 陰性コントロール。

#### 乳癌におけるアロマターゼの発現制御

アロマターゼは乳癌組織内の様々な細胞で発現

しているが、その発現はどのように制御されているのだろうか。

乳癌組織におけるアロマターゼの発現を検討し

てみると、正常乳腺組織よりも非浸潤性乳癌でアロマターゼが高発現しており、浸潤性乳癌では非浸潤性乳癌よりも更に発現が亢進していた(図4)。そこで乳癌細胞と乳癌組織内間質細胞を共培養しアロマターゼ発現の変化を検討した結果、いずれの細胞においても単独培養よりも共培養後の方がアロマターゼの発現が有意に亢進した<sup>11)</sup>。今までの研究により、乳癌細胞との共培養によって脂肪間質細胞のアロマターゼ発現が亢進することや<sup>12)</sup>、乳癌細胞で産生される prostaglandin  $E_2$  (PGE<sub>2</sub>)、癌細胞や炎症性細胞から放出される interleukin (IL)-6 や IL-11 等のサイトカイン、tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) 等が間質細胞のアロマターゼを強く誘導することも報告されている<sup>10)</sup>。また epidermal growth factor (EGF) 等種々の成長因子が乳癌細胞のアロマターゼ活性を亢進されることも示されている。このようなこ

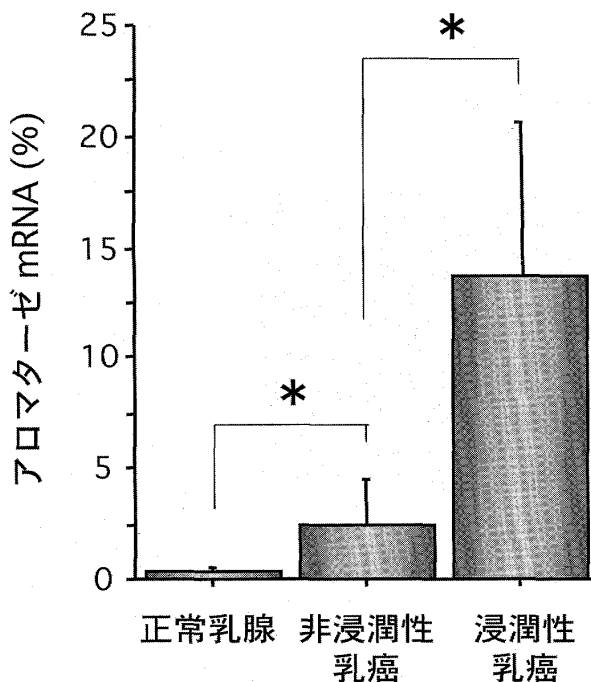


図4. 乳癌組織におけるアロマターゼの発現。アロマターゼ mRNA の発現は、正常乳腺組織よりも非浸潤性乳癌で有意に高く、浸潤性乳癌では非浸潤性乳癌よりも更に有意に高い。Real-time PCR 法による解析。アロマターゼ mRNA は内因性コントロール (ribosomal protein L 13a) に対する比 (%) で表し、平均値 $\pm$ 95% 信頼区間で示した (各群 12 例ずつ)。\*;  $p < 0.05$ 。

とから、乳癌組織におけるアロマターゼは微小環境の影響を強く受けており、特に乳癌が浸潤し癌細胞と間質細胞が相互作用することで、その発現が亢進するものと推察される。

核内受容体によるアロマターゼの発現制御も近年注目されている。核内受容体とは DNA 結合領域とリガンド結合領域を有する核内転写調節因子群の総称である。もともとは ER 等ステロイドホルモン受容体として同定されはじめたが、遺伝子配列の相同性をもとに今日では数十種類同定され、転写調節因子として最大のスーパーファミリーを形成している。アロマターゼはプロモーター領域に nuclear receptor half site を有し、同部に結合する核内受容体 SF1 (steroidogenic factor 1; NR5A1) によって発現が誘導される。しかし乳癌組織では SF1 が発現しておらず、他の核内受容体の関与が推察されていた。

SF1 と高い相同性を持つ核内受容体である LRH-1 (liver receptor homologue-1; NR5A2) は、肝においてコレステロールの代謝や合成に関わる酵素の遺伝子発現を誘導することで知られていたが、近年 LRH-1 も SF1 同様アロマターゼを誘導しうることが明らかとなった。そこで我々は乳癌組織における LRH-1 の発現意義を検討した結果、LRH-1 は乳癌細胞と癌周囲脂肪細胞に発現し、癌周囲脂肪組織における LRH-1 の発現量はアロマターゼと相関していた<sup>13)</sup>。更に脂肪間質細胞に LRH-1 を強制発現させるとアロマターゼの発現が誘導された<sup>13)</sup>。従って LRH-1 は乳癌周囲脂肪組織におけるアロマターゼの発現を制御する重要な因子と考えられる。

一方乳癌細胞におけるアロマターゼは核内受容体 ERR $\alpha$  (estrogen-related receptor  $\alpha$ ; NR3B1) によって誘導されることが過去に報告されている<sup>14)</sup>。そこで我々は乳癌における ERR $\alpha$  とアロマターゼの関係についても解析し、ERR $\alpha$  が乳癌細胞に発現し<sup>15)</sup>、乳癌細胞のアロマターゼ発現と相関すること<sup>11)</sup>を明らかにした。興味深いことに ERR $\alpha$  は脂肪間質細胞のアロマターゼは誘導せず、また LRH-1 は乳癌細胞におけるアロマターゼの発現には関与していない<sup>16)</sup>。従ってア

ロマターゼの発現は細胞によって異なる制御を受けており、それが乳癌におけるアロマターゼ発現に多様性を与えていると考えられる。

### 乳癌におけるアンドロゲン合成とアロマターゼ

アロマターゼはアンドロゲンをエストロゲンに変換する酵素であることを考えると、アロマターゼはエストロゲン合成のみならず、アンドロゲンに関しても何らかの作用をしている可能性がある。アンドロゲンは活性型アンドロゲンである DHT ( $5\alpha$ -dihydrotestosterone) がアンドロゲン受容体 (AR) を介して作用し、乳癌ではエストロゲンとは逆に乳癌細胞の増殖抑制に主に働くと考えられている。AR は大部分の乳癌組織で陽性であるが、女性では血中の DHT 濃度がきわめて低いいため、乳癌におけるアンドロゲン作用は注目されてこなかった。しかしエストロゲン同様 DHT も乳癌組織内で局所合成されることが明らかとなり<sup>10,17)</sup> (図 5)、近年乳癌におけるアンドロ

ゲン作用が注目されはじめている。

アロマターゼは DHT 合成過程のアンドロゲン (androstenedione や testosterone) をエストロゲンに変換する酵素であるが、DHT そのものは芳香化しない (図 5)。乳癌組織におけるアンドロゲン及びエストロゲン合成経路はオーバーラップする部分が多く、密接に関連しあっている。過去の研究により、ラット乳癌モデルにおいてアロマターゼ阻害剤を投与すると腫瘍内 testosterone 濃度が増加することや<sup>18)</sup>、乳癌細胞において testosterone がアロマターゼによって estradiol に変換されること<sup>19)</sup> 等が報告されている。更に近年、我々は乳癌組織中 DHT 濃度がアロマターゼ発現と逆相関することを見だし、乳癌における DHT 合成がアロマターゼによって抑制されることを明らかにした<sup>20)</sup>。アロマターゼは主に基質となる testosterone を  $5\alpha$ -reductase と取り合うことで、DHT 産生に関して抑制的に作用していると推察される。閉経後乳癌症例においてアロマ

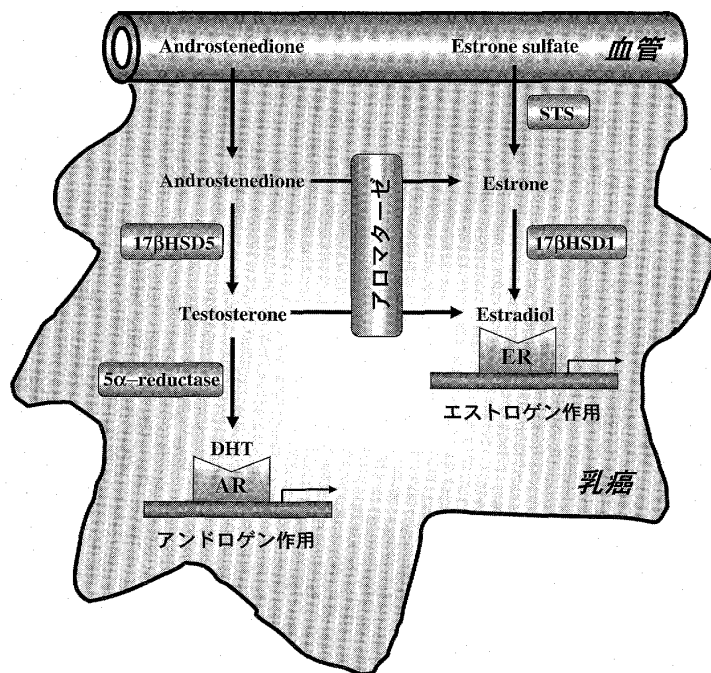


図 5. 乳癌組織におけるアンドロゲン局所合成経路。アンドロゲン合成もエストロゲン同様、血中に多く存在する androstenedione を基質とする。Androstenedione は  $17\beta$ HSD5 ( $17\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 5) 及び  $5\alpha$ -reductase によって、活性型アンドロゲンである DHT ( $5\alpha$ -dihydrotestosterone) に変換される。DHT は AR (アンドロゲン受容体) を介して乳癌細胞に作用する。エストロゲン合成に関しては図 2 を参照のこと。



ターゼ阻害剤はタモキシフェンを上回る臨床効果を示しているが、その一因としてアンドロゲンの局所作用の亢進もあるかもしれない。内分泌療法の観点からも乳癌におけるアンドロゲン作用のより詳細な解明が望まれる。

### アロマターゼ阻害剤と乳癌内分泌療法の今後

乳癌におけるエストロゲン合成にはアロマターゼの他に steroid sulfatase (STS) や  $17\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 ( $17\beta$ HSD1) も関与している (図 2)。STS 陽性乳癌は有意に予後不良であり<sup>21)</sup>,  $17\beta$ HSD1 は閉経後乳癌組織中の estradiol 濃度と関連すること<sup>22)</sup> が報告されている。我々が乳癌組織におけるエストロゲン合成酵素の発現を免疫組織化学的に検討すると、お互いに相関性がみられなかった<sup>10)</sup>。従ってエストロゲン合成に重要な酵素は患者によって異なっている可能性が推察され、アロマターゼ阻害剤のみでは全ての乳癌患者におけるエストロゲン作用を必ずしも完全に遮断することはできないかもしれない。種々の研究グループによって現在 STS 阻害剤や  $17\beta$ HSD1 阻害剤の開発が進められており、STS 阻害剤がアロマターゼ阻害剤抵抗性乳癌にも有効である可能性も示唆されている<sup>23)</sup>。今後、アロマターゼ阻害剤とともにこれらの薬剤も使用可能となれば、個々の乳癌患者に応じてエストロゲン合成を適切にブロックすることが可能となり、乳癌内分泌療法の更なる向上が期待される。

長期にわたるアロマターゼ阻害剤の使用は、タモキシフェン同様やがて治療抵抗性を引き起こす可能性がある。近年、ER 陽性かつ HER2 陽性乳癌は内分泌療法に抵抗性を示しやすいことや、EGF, insulin-like growth factor-I (IGF-I),  $\text{TNF}\alpha$  等が低濃度エストロゲンあるいはエストロゲン非存在下でも ER を活性化することが明らかにになってきた<sup>24)</sup>。このような現象は“エストロゲン過敏状態 (estrogen hypersensitivity)”とよばれ、エストロゲンと成長因子作用のクロストークが内分泌療法によるエストロゲン枯渇状態でも乳癌が増殖進展する主な原因ではないかと考えられている。タモキシフェンは ER に結合するため、

エストロゲン過敏状態ではエストロゲン作用を発揮しかねない。アロマターゼ阻害剤はその点有利ではあるが、より臨床効果を向上させるために成長因子受容体シグナル伝達系を合わせて遮断することが重要ではないかという意見もあり、現在種々の併用療法が試みられはじめている<sup>25)</sup>。

### おわりに：intracrinology の今後

以上述べてきたように、乳癌組織ではアロマターゼ等の酵素により局所的にエストロゲンが合成され作用している (intracrinology)。これまで内分泌学は血中のホルモン濃度を測定することで発展し、様々な疾患を解明してきた。しかし intracrinology という新たな概念の誕生は、従来の内分泌学では見逃されてきた内分泌疾患が多く存在することを示唆している。Intracrinology ではホルモン量が比較的微量でかつ作用範囲も限局的であることから、生化学的検索が容易ではない。そこで我々はホルモンそのものの局所動態よりも、ホルモン活性を調節する酵素やホルモン作用を発揮する受容体、あるいはその結果誘導されるタンパク等の局在を免疫組織化学的に可視化し、主に病理形態学的な面から局所的なホルモン作用を解析している。その結果、肺癌<sup>27)</sup>、大動脈硬化症<sup>28)</sup>、骨疾患、関節リウマチ等、従来はあまり内分泌疾患として認識されてこなかった様々な病態においてもホルモンの局所作用の重要性が示されつつある。そのような疾患では何らかの内分泌治療が将来可能となるかもしれない。Intracrinology はまだまだ研究の端緒が開かれたばかりであり未解明の部分が多いが、今後様々な疾患においてホルモンの局所作用に関する研究が発展していくことを大いに期待する次第である。

### 文 献

- 1) Labrie, F., Luu-The, V., Labrie, C., Belanger, A., Simard, J., Lin, S.X., Pelletier, G.: Endocrine and intracrine sources of androgens in women: inhibition of breast cancer and other roles of androgens and their precursor dehydroepiandrosterone, *Endocr. Rev.*, **24**, 152-182,

- 2003
- 2) Baum, M., Budzar, A.U., Cuzick, J., Forbes, J., Houghton, J.H., Klijn, J.G., Sahmoud, T.; ATAC Trialists' Group.: Anastrozole alone or in combination with tamoxifen versus tamoxifen alone for adjuvant treatment of postmenopausal women with early breast cancer: first results of the ATAC randomised trial, *Lancet*, **359**, 2131-2139, 2002.
- 3) Goss, P.E., Ingle, J.N., Martino, S., Robert, N.J., Muss, H.B., Piccart, M.J., Castiglione, M., Tu, D., Shepherd, L.E., Pritchard, K.I., Livingston, R.B., Davidson, N.E., Norton, L., Perez, E.A., Abrams, J.S., Therasse, P., Palmer, M.J., Pater, J.L.: A randomized trial of letrozole in postmenopausal women after five years of tamoxifen therapy for early-stage breast cancer, *N. Engl. J. Med.*, **349**, 1793-1802, 2003
- 4) Coombes, R.C., Hall, E., Gibson, L.J., Paridaens, R., Jassem, J., Delozier, T., Jones, S.E., Alvarez, I., Bertelli, G., Ortmann, O., Coates, A.S., Bajetta, E., Dodwell, D., Coleman, R.E., Fallowfield, L.J., Mickiewicz, E., Andersen, J., Lonning, P.E., Cocconi, G., Stewart, A., Stuart, N., Snowden, C.F., Carpentieri, M., Massimini, G., Bliss, J.M.; Intergroup Exemestane Study: A randomized trial of exemestane after two to three years of tamoxifen therapy in postmenopausal women with primary breast cancer, *N. Engl. J. Med.*, **350**, 1081-1092, 2004
- 5) Sasano, H., Harada, N.: Intratumoral aromatase in human breast, endometrial, and ovarian malignancies, *Endocr. Rev.*, **19**, 593-607, 1998
- 6) Esteban, J.M., Warsi, Z., Haniu, M., Hall, P., Shively, J.E., Chen, S.: Detection of intratumoral aromatase in breast carcinomas. An immunohistochemical study with clinicopathologic correlation, *Am. J. Pathol.*, **140**, 337-343, 1992
- 7) Sasano, H., Nagura, H., Harada, N., Goukon, Y., Kimura, M.: Immunolocalization of aromatase and other steroidogenic enzymes in human breast disorders, *Hum. Pathol.*, **5**, 530-533, 1994
- 8) Santen, R.J., Martel, J., Hoagland, M., Naftolin, F., Roa, L., Harada, N., Hafer, L., Zaino, R., Santner, S.J.: Stromal spindle cells contain aromatase in human breast tumors, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **79**, 627-632, 1994
- 9) Brodie, A.M., Lu, Q., Long, B.J., Fulton, A., Chen, T., Macpherson, N., DeJong, P.C., Blankenstein, M.A., Nortier, J.W., Sleen, P.H., van de Ven, J., van Gorp, J.M., Elbers, J.R., Schipper, M.E., Blijham, G.H., Thijssen, J.H.: Aromatase and COX-2 expression in human breast cancers, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **79**, 41-47, 2001
- 10) Suzuki, T., Miki, Y., Nakamura, Y., Moriya, T., Ito, K., Ohuchi, N., Sasano, H.: Sex-steroid producing enzymes in human breast cancer, *Endocr. Relat. Cancer*, **12**, 701-720, 2005
- 11) Miki, Y., Suzuki, T., Tazawa, C., Yamaguchi, Y., Kitada, K., Honma, S., Moriya, T., Hirakawa, H., Evans, D.B., Hayashi, S., Ohuchi, N., Sasano, H.: Aromatase localization in human breast cancer tissues: possible interactions between intratumoral stromal and parenchymal cells, *Cancer Res.*, **67**, 3945-3954, 2007
- 12) Harada, N., Honda, S.: Molecular analysis of aberrant expression of aromatase in breast cancer tissues, *Breast Cancer Res. Treat.*, **49**, S15-21, 1998
- 13) Zhou, J., Suzuki, T., Kovacic, A., Saito, R., Miki, Y., Ishida, T., Moriya, T., Simpson, E.R., Sasano, H., Clyne, C.D.: Interactions between prostaglandin E(2), liver receptor homologue-1, and aromatase in breast cancer, *Cancer Res.*, **65**, 657-663, 2005
- 14) Yang, C., Zhou, D., Chen, S.: Modulation of aromatase expression in the breast tissue by ERRA-1 orphan receptor, *Cancer Res.*, **58**, 5695-5700, 1998
- 15) Suzuki, T., Miki, Y., Moriya, T., Shimada, N., Ishida, T., Hirakawa, H., Ohuchi, N., Sasano, H.: Estrogen-related receptor in human breast carcinoma as a potent prognostic factor, *Cancer Res.*, **64**, 4670-4676, 2004
- 16) Miki, Y., Clyne, C.D., Suzuki, T., Moriya, T., Nakamura, Y., Ishida, T., Yabuki, N., Kitada, K., Hayashi, S., Sasano, H.: Immunolocalization of liver receptor homologue-1 (LRH-1) in human breast carcinoma: possible regulator of in situ steroidogenesis, *Cancer Lett.*, **244**, 24-

- 33, 2006
- 17) Suzuki, T., Darnel, A.D., Akahira, J.I., Ariga, N., Ogawa, S., Kaneko, C., Takeyama, J., Moriya, T., Sasano, H.:  $5\alpha$ -reductases in human breast carcinoma: possible modulator of *in situ* androgenic actions, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **86**, 2250-2257, 2001
  - 18) Spinola, P.G., Marchetti, B., Merand, Y., Belanger, A., Labrie, F.: Effects of the aromatase inhibitor 4-hydroxyandrostenedione and the antiandrogen flutamide on growth and steroid levels in DMBA-induced rat mammary tumors, *Breast Cancer Res. Treat.*, **12**, 287-296, 1988
  - 19) Sonne-Hansen, K., Lykkesfeldt, A.E.: Endogenous aromatization of testosterone results in growth stimulation of the human MCF-7 breast cancer cell line, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **93**, 25-34, 2005
  - 20) Suzuki, T., Miki, Y., Moriya, T., Akahira, J., Ishida, T., Hirakawa, H., Yamaguchi, Y., Hayashi, S., Sasano, H.:  $5\alpha$ -reductase type 1 and aromatase in breast carcinoma as regulators of *in situ* androgen production, *Int. J. Cancer.*, **20**, 285-291, 2007
  - 21) Suzuki, T., Nakata, T., Miki, Y., Kaneko, C., Moriya, T., Ishida, T., Akinaga, S., Hirakawa, H., Kimura, M., Sasano, H.: Estrogen sulfotransferase and steroid sulfatase in human breast carcinoma, *Cancer Res.*, **63**, 2762-2770, 2003
  - 22) Miyoshi, Y., Ando, A., Shiba, E., Taguchi, T., Tamaki, Y., Noguchi, S.: Involvement of up-regulation of  $17\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in maintenance of intratumoral high estradiol levels in postmenopausal breast cancers, *Int. J. Cancer*, **94**, 685-689, 2001
  - 23) Stanway, S.J., Purohit, A., Woo, L.W., Sufi, S., Vigushin, D., Ward, R., Wilson, R.H., Stanczyk, F.Z., Dobbs, N., Kulinskaya, E., Elliott, M., Potter, B.V., Reed, M.J., Coombes, R.C.: Phase I study of STX 64 (667 Coumate) in breast cancer patients: the first study of a steroid sulfatase inhibitor, *Clin. Cancer Res.*, **12**, 1585-1592, 2006
  - 24) Osborne, C.K., Shou, J., Massarweh, S., Schiff, R.: Crosstalk between estrogen receptor and growth factor receptor pathways as a cause for endocrine therapy resistance in breast cancer, *Clin. Cancer Res.*, **11**, 865s-870s, 2005
  - 25) Leary, A., Dowsett, M.: Combination therapy with aromatase inhibitors: the next era of breast cancer treatment?, *Br. J. Cancer*, **95**, 661-666, 2006
  - 26) Ishibashi, H., Suzuki, T., Suzuki, S., Niikawa, H., Lu, L., Miki, Y., Moriya, T., Hayashi, S., Handa, M., Kondo, T., Sasano, H.: Progesterone receptor in non-small cell lung cancer - a potent prognostic factor and possible target for endocrine therapy, *Cancer Res.*, **65**, 6450-6458, 2005
  - 27) Nakamura, Y., Igarashi, K., Suzuki, T., Kanno, J., Inoue, T., Tazawa, C., Saruta, M., Ando, T., Moriyama, N., Furukawa, T., Ono, M., Moriya, T., Ito, K., Saito, H., Ishibashi, T., Takahashi, S., Yamada, S., Sasano, H.: E4F1, a novel estrogen-responsive gene in possible atheroprotection, revealed by microarray analysis, *Am. J. Pathol.*, **165**, 2019-2031, 2004